

Die Verwertung von
oral zugeführtem 1-C¹⁴-Na-Acetat

von

HEINZ F. KOLITZ

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

VORSTAND: PROFESSOR Dr. W. SEITZ

Die Verwertung von oral zugeführtem 1- C¹⁴- Na - Acetat.

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von

H e i n z F. K o l i t z

aus München



München 1959

5349/60

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. H. Schwiegl

Tag der mündlichen Prüfung: 21. 12. 1959

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	4
Aufgabestellung der vorliegenden Arbeit . .	9
Methodik	10
Ergebnisse	15
Diskussion	24
Zusammenfassung	29
Literaturverzeichnis	31



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Einleitung

Bis vor einem Jahrhundert war man der Ansicht, daß der tierische Organismus nicht in der Lage sei , selbst Fette zu synthetisieren . Man glaubte vielmehr , daß alle Lipide der aufgenommenen Nahrung entstammten. Später erkannte man zwar, daß der Körper zur Lipogenese aus Kohlenhydraten und Proteinen in der Lage ist ; es wurde jedoch die Auffassung vertreten,daß diese Vorgänge nur im wachsenden oder an Gewicht zunehmenden Organismus stattfänden.Diese Vorstellung konnte erst durch die Verwendung von Indikatoren in der Biochemie berichtigt werden.1936 verfütterten Schoenheimer und Rittenberg (1) Deuteriumoxyd ($D_2 O$) an kohlenhydratreich ernährte Mäuse bis zu einem konstanten Niveau der Deuteriumoxydkonzentration in der Körperflüssigkeit . Nach einigen Tagen bestimmten sie den Betrag des in Fette eingebauten Deuteriums . Auf diese Weise konnte nachgewiesen werden, daß auch Tiere,die sich in ihrem Körpergewicht auf einer gleichmäßigen Höhe halten,eine Lipogenese aufweisen. In derselben Arbeit berichteten die Autoren ferner,daß neben dieser Synthese gleichzeitig auch ein Abbau von Fetten mit derselben Geschwindigkeit erfolgt. Aus all dem schlossen sie , daß die aufgenommene Nahrung nicht sogleich verbrannt wird, sondern erst ein Teil in Fett umgewandelt und in den Fettdepots abgelagert wird , bis diese Lipide zur Energielieferung herangezogen werden ("Energiepuffer des Fettgewebes"). Untersuchungen von Stetten und Boxer (2) sowie Masoro, Chaikoff und Dauben (3) zeigten , daß bei fettfreier Kost 30% des angebotenen Kohlenhydrates in Fett

umgebaut wird. Hier schon zeigte sich , wie unten noch berichtet wird, eine besonders starke Lipogenese bei Kohlenhydraternährung.

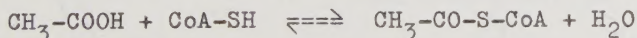
Zur Feststellung der Geschwindigkeit der Fettsynthese wandten Bernhard und Schoenheimer (4) wieder Deuterium als Indikator an. Ihre Berechnungen ergaben, daß in 24 Stunden die Hälfte der Leberfettsäuren regeneriert wird, die Fettsäuren in den übrigen Organen und Geweben dazu 5 bis 9 Tage benötigen . Nicht alle diese Fettsäuren sind Neubildungen, sondern es spielt auch der Austausch von C_2 -Bruchstücken eine große Rolle, sodaß aus einer Fettsäure durch Verkürzen oder Verlängern eine neue gebildet werden kann.

Durch Untersuchungen von Rittenberg und Bloch (5) mit lebenden Ratten und durch die in vitro- und in vivo-Versuche von Pihl und Bloch (6) wurde festgestellt, daß der Wasserstoff des Wassers nicht direkt in die Fettsäuren eingebaut wird . Diese Arbeiten ließen erkennen, daß Acetat das Ausgangssubstrat für die Lipogenese darstellt. Daneben fanden Pihl und Bloch eine schnellere Regeneration der Neutralfette als der Phosphorlipide in der Leber, während in allen anderen inneren Organen die Phosphorlipide die höhere Isotopenkonzentration aufwiesen. Rittenberg und Bloch (7) verfütterten an Ratten Essigsäure , die an der Carboxylgruppe mit schwerem Kohlenstoff , an der Methylgruppe mit Deuterium markiert war . In den erhaltenen Fettsäuren waren beide Indikatoren nachweisbar. Daraus folgerten sie, daß die C-Ketten der Fettsäuren durch Kondensation von Essigsäure entstehen , weil beide C-Atome der Essigsäure bei

der Synthese verwendet worden waren . Für diese Überlegung spricht auch die gerade Anzahl von C- Atomen in den natürlich vorkommenden Fettsäuren.

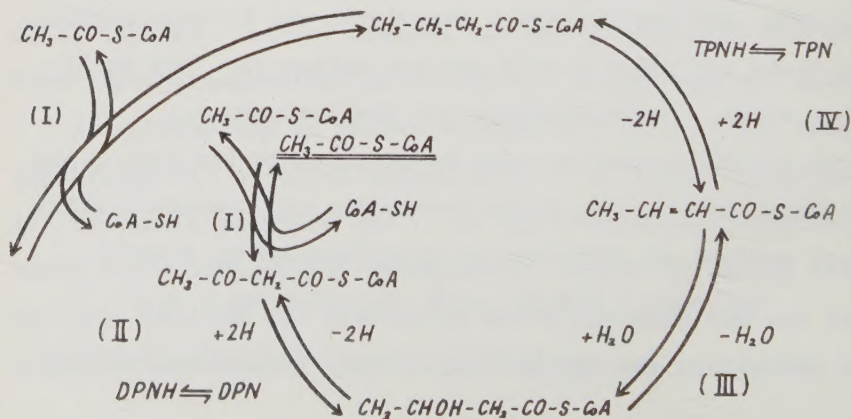
Von der Erkenntnis ausgehend, daß Acetat zur Lipogenese dient, wurden unter anderem von Stein und Shapiro (8) in vitro-Versuche mit Enzymsystemen, gewonnen aus Taubenleber, durchgeführt , wobei aus C¹⁴- markiertem Acetat Fettsäuren gewonnen werden konnten . 1956 unternahmen von Brand und Helmreich (9) weitere Versuche in dieser Richtung und konnten eine Abhängigkeit der Lipogenese von der Glykolyse nachweisen . Hier , wie auch in den Arbeiten von Stein und Sharpiro, zeigte sich eine deutliche Förderung der Fettbildung bei Zugabe von ATP und DPNH . Eine spezielle Arbeit über die zur Fettsynthese nötigen Faktoren liegt von Van Baalen und Gurin (10) vor. Auch sie fanden eine Förderung durch DPNH , ATP und zusätzlich durch Mg⁺⁺ und Coenzym A . Auch von Brand und Seitz (11) haben sich mit dieser Frage beschäftigt und fanden einen bis jetzt noch ungeklärten, nicht eiweißhaltigen , die Fettsäuresynthese steigernden Faktor in der Taubenleber. Die Abhängigkeit der Lipogenese von DPNH, ATP und Coenzym A kann durch den Fettsäurezyklus von Lynen und Ochoa (12) erklärt werden, der 1953 publiziert wurde. Ausgangsprodukt ist die Essigsäure.

Bevor die Essigsäure in eine Reaktion eintreten kann , muß sie durch die Bildung einer Verbindung mit Coenzym A aktiviert werden. Es entsteht ein Acetylmerkaptan; Formel:



Die Energie , die zur Bildung dieser Verbindung benötigt

wird, liefert die Adenosintriphosphorsäure (ATP) . Dabei geht das ATP in die Adenosindiphosphorsäure (ADP) über . Zwei Moleküle Acetyl-S-CoA können nun miteinander reagieren, wobei Acetoacetyl-S-CoA und ein freies CoA-SH entsteht, das seinerseits wieder zur Aktivierung einer weiteren Säure zur Verfügung steht. Für diesen ersten Schritt der Lipogenese ist die β -Ketoacyl-Thiolase (I) verantwortlich. Als nächstes wird unter der Wirkung der β -Hydroxyacyl-Dehydrogenase (II) die C=O Bindung zu CHOH reduziert, wobei β -Oxybutyryl-S-CoA entsteht. Den Wasserstoff hierzu liefert das hydrierte Diphosphorpyridinnukleotid (DPNH), welches in DPN übergeht . Im weiteren Verlauf (III) wird aus dem β -Oxybutyryl-S-CoA ein Molekül H_2O abgespalten. Dies führt zum Crotonyl-S-CoA . Das katalysierende Ferment ist die Enoyl-Hydratase. Der letzte Reaktionsschritt des Fettsäurezyklus ist die Reduktion (IV) des entstandenen Crotonyl-S-CoA zu Butyryl-S-CoA. Als wasserstoffübertragendes Coferment dient hydriertes Triphosphorpyridinnukleotid (TPNH) . Alle Reaktionen im Verlauf des Fettsäurezyklus sind rückläufig.



Versuche von Masoro, Chaikoff, Chernick und Felts (13) zeigten, daß Leberpräparationen von Tieren , die gehungert hatten, nicht imstande waren , Fett zu bilden im Gegensatz zu gut ernährten Tieren . In der gleichen Arbeit wurde berichtet , daß die Art der Ernährung von ausschlaggebender Bedeutung ist . Ratten, die nur mit Kohlenhydraten ernährt worden waren, zeigten eine starke Fettsynthese,während mit Fett oder Proteinen ernährte Tiere nur geringe Lipogenese aufwiesen. Unveröffentlichte in vitro-Versuche von v.Brand und Seitz mit Taubenleberhomogenaten als fettsynthetisierendes Enzymsystem konnten die Abhängigkeit von der Menge und der Art der Nahrung bestätigen. Jedoch war es möglich, die fettsynthetisierenden Enzymsysteme aus Lebern von Tauben, die drei Tage gehungert hatten, durch Zugabe von ATP und TPN, also Zusätze nicht fermentativer Natur, zu stimulieren. Daraus ergibt sich, daß im Hungerzustand die wirksamen Fermente sicher vorhanden sind, daß aber ATP und einige notwendige Cofermente als Energielieferanten nur in unzureichender Menge vorliegen.

Aufgabestellung der vorliegenden Arbeit

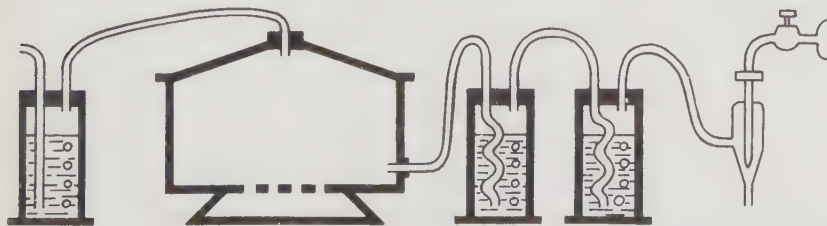
In Fortführung der in vitro-Versuche sollen in dieser Arbeit Untersuchungen an lebenden Tieren , und zwar ebenfalls an Tauben, durchgeführt werden. Die Tiere werden mit $1\text{-C}^{14}\text{-Na-Acetat}$ gefüttert , die Verwertung des zugeführten Acetates durch quantitative Bestimmung des ausgeatmeten C^{14}O_2 in Abhängigkeit von der Zeit bestimmt und die Synthese von C^{14} -markierten Fetten durch Aufarbeitung der Leber ermittelt. Weiterhin interessiert, welche Fette synthetisiert werden. Zur Klärung dieser Frage werden die aus der Leber extrahierten Gesamtfette aufgetrennt in eine acetonlösliche und eine acetonunlösliche Fraktion, i.e. die Phosphorlipide werden von den übrigen Fetten, vornehmlich den Neutralfetten, abgetrennt.

Diese Versuche werden an gut ernährten Tauben und an Hungertauben durchgeführt , um einen Einblick zu erhalten, wie weit die Ernährungslage die Höhe der Fettsynthese und die prozentuale Verteilung der Neutralfette und der Phosphorlipide im Gesamtfett beeinflusst.

Methodik

Zu den Versuchen werden sechs bis zwölf Monate alte Tauben verwendet , da erfahrungsgemäß in diesem Alter die Fettsynthese am stärksten ist . Um optimale Ernährungsbedingungen für die Lipogenese zu erhalten, werden die Tiere mindestens eine Woche lang vor dem Versuch ausschließlich mit einer kohlenhydratreichen Kost (Weizen) ernährt.Diese Tiere werden als Normaltauben bezeichnet.Andere Tauben, die ebenfalls ausreichend mit Weizen gefüttert worden waren , werden drei Tage vor dem Einsatz in den Versuch auf Hunger gesetzt ; der Wasserverbrauch wird nicht eingeschränkt.

Der jeweils in den Versuch eingesetzten Taube wird 1 cm^3 $1\text{-C}^{14}\text{-Na-Acetat}^{x)}$ mit etwa der gleichen Menge Wasser vermischt in den Kropf instilliert . Darauf wird die Taube sofort in einen Stoffwechselkäfig (Inhalt ca. 3 l) gebracht. Dem Tier werden vorher Schwung - und Schwanzfedern beschnitten, um den Aufenthalt in dem beschränkten Raum zu ermöglichen . Eine an den Stoffwechselkäfig angeschlossene Wasserstrahlpumpe sorgt für einen kontinuierlichen Luftdurchfluß.Die angesaugte Frischluft wird durch vorgeschal-



x) enthaltend 5 mg aktives und inaktives Acetat =

300 000 Imp/min

tete NaOH von CO_2 gereinigt. Zwischen Stoffwechselkäfing und Wasserstrahlpumpe befinden sich zwei mit NaOH gefüllte Absorptionsgefäße, durch welche die abgesaugte Ausatemungsluft geführt wird. Eine quantitative Absorption des CO_2 ist durch Absorptionsspiralen oder -fritten gewährleistet.

Die ersten fünf Minuten des Versuches dienen nur als Anlaufzeit. Die ausgeatmete CO_2 wird nach 15, 30, 60, 90, 120 und 150 Minuten, vom Beginn des Versuches an gerechnet, getrennt aufgefangen. In den einzelnen Fraktionen wird das CO_2 als BaCO_3 bestimmt: nach Zugabe von 5 ccm 2%igem Ammoniumchlorid wird die Lösung zum Sieden erhitzt. Unter Umrühren wird tropfenweise heißes 28%iges Bariumchlorid zugegeben: die Kohlensäure fällt als BaCO_3 aus. Das Bariumcarbonat wird in einem Filtertiegel (G4) aufgefangen. Die Tiegel werden bei 105° im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz erwärmt und dann das Gesamtgewicht an BaCO_3 bestimmt. Ein Teil des Carbonates wird im Mörser pulverisiert und mit Zaponlack (1% in absolutem Alkohol) verrieben. Eine möglichst dünne Schicht dieses Breies wird auf Metallplättchen ($\varnothing$ 25 mm), deren Gewicht bekannt ist, aufgetragen. Es werden zur Kontrolle jeweils zwei Plättchen gegossen. Nach dem Trocknen der Plättchen unter Rotlicht werden sie gewogen und das Gewicht der aufgegossenen Menge BaCO_3 festgestellt. (Das Gewicht des Zaponlackes kann vernachlässigt werden, da es sich in nicht mehr meßbaren Größenordnungen bewegt). Die Belegung der Plättchen mit BaCO_3 in mg/cm^2 wird errechnet. Der Wert von 5 mg/cm^2 soll nicht überschritten werden, um die Selbstabsorption so niedrig wie

möglich zu halten . Danach werden die Plättchen im Geiger-zähler^{x)} gemessen, um die Aktivität des aufgetragenen $\text{BaC}^{14}\text{O}_3$ zu erhalten. Die Gesamtaktivität des $\text{BaC}^{14}\text{O}_3$ auf den Plättchen wird unter Berücksichtigung der Selbstabsorption nach den Richtlinien, die in "Isotopic Carbon" (14) angegeben sind, errechnet . Anschließend erfolgt die Umrechnung auf die in den einzelnen Zeitintervallen insgesamt ausgeschiedene Menge aktiven Carbonates. In den Kurven I - IV ist die ausgeschiedene C^{14}O_2 -Menge (als $\text{BaC}^{14}\text{O}_3$ bestimmt) in der Zeiteinheit aufgetragen, angegeben in Impulsen pro Minute.

Nach Beendigung des Atmungsversuches wird die Taube sofort getötet und die Leber entnommen. Die Leber wird von Gallenblase und Bindegewebe freipräpariert , auf Filterpapier abgetrocknet und gewogen. Dann wird sie mit dem äquivalenten Gewicht an aqua bidestillata versetzt und bei 12 000 Touren 2 Minuten lang in einem elektrischen Homogenisator^{xx)} homogenisiert. 10 g des Homogenates, also 5 g Leber entsprechend, werden in einen Rundkolben von 1 l Volumen eingewogen und unter Schwenken langsam 500 cm³ Bloor'sche Lösung (1 Teil Äther, 3 Teile 96%iger Alkohol) zugegeben . Diese Lösung wird bei 70° im Wasserbad eine Stunde lang am Rückflußkühler gekocht , um die Fette zu extrahieren. Danach wird der Überstand durch ein Filter (Ø 15 cm) abdekantiert und der Rückstand mit etwa 200 cm³ Chloroform und 40 cm³ Methanol versetzt. Diese Lösung wird wieder bei

x) Geiger-Zählgerät FH 49 Frieseke und Hoepfner,

Erlangen-Bruck.

Glimmer-Fenster-Zählrohr dünner Belegung (a 1,0 mg/cm²)

xx) Homogenisator für wissenschaftliche Zwecke,

E.Bühler/Tübingen.

70° im Wasserbad am Rückflußkühler eine halbe Stunde zum Sieden gebracht, um die Fette quantitativ zu extrahieren. Das gesamte Gemisch wird durch schon benutzte Filter gegeben und der Rückstand mehrmals mit Chloroform nachgewaschen. Die so erhaltene Lösung wird im Wasserbad bei 50° im Vakuum bis zur Trockene eingedampft. Um letzte Wasserreste zu beseitigen, werden 20 cm³ 96%iger Alkohol zugegeben, den man ebenfalls zur Trockene eindampft. Die auf diese Weise im Glaskolben zurückbleibenden Lipide werden mit Petroläther filtriert und auf 25 cm³ aufgefüllt. Von diesen Gesamtfetten werden 0,5 cm³ auf Aluminiumplättchen aufgetragen, die einen Durchmesser von 30 mm und einen Rand von 3 mm Höhe haben und mit einem Blättchen aus Lenspaper^{x)} bedeckt sind. Der Petroläther wird an der Luft verdampft und die Plättchen nach der Methode der "direkten Messung" nach Entenman u.a. (15) in einem Methan-Durchflußzähler^{xx)} gemessen. 18 cm³ der 25 cm³-Lösung werden weiterverarbeitet zur Auftrennung in eine acetonlösliche und eine acetonunlösliche Fraktion. Diese 18 cm³ werden fast zur Trockene eingedampft und auf 0° gekühlt. Langsam und unter Rühren werden 30 cm³ eisgekühltes Aceton zugegeben. Zur quantitativen Fällung der acetonunlöslichen Fraktion verbleibt das Gemisch 24 Stunden im Eisschrank. Danach wird das überstehende Aceton abpipettiert und durch ein kleines Filter gegeben. Der Rückstand wird nochmals mit 15 cm³ Aceton ver-

x) "Josta-Klar" mit Silikonöl der Firma Josta GmbH, München

xx) Methan-Durchflußzähler FH 51, 2 π -Zählrohr Friesseke und Hoepfner, Erlangen-Bruck. Messung bei 3,75 KV, Diskriminatortstellung 7, Blasenzahl 120/min.

setzt und der dabei entstehende Überstand wiederum abfiltriert. Die vereinigten Acetonlösungen werden eingedampft und der Rückstand getrocknet. Die so erhaltenen acetonlöslichen und-unlöslichen Fette werden jeweils in Petroläther gelöst und in einem Meßkolben auf 10 cm^3 aufgefüllt. Die acetonunlösliche Fraktion besteht zur Hauptsache aus Phosphorlipoiden, in der Acetonlösung sind die Restfette, vornehmlich Neutralfette enthalten. Von den beiden Lösungen werden wie vorher jeweils Plättchen mit $0,5\text{ cm}^3$ gegossen und im Geigerzähler gemessen. Die Umrechnung der Aktivität auf die Gesamtmenge von 25 cm^3 erfolgt nach der Formel $\frac{\text{Imp} \cdot 20 \cdot 25}{18}$. Dadurch kann die Aktivität der Neutralfette und der Phosphorlipide mit der der Gesamtfette in Beziehung gebracht werden. Es ergeben sich kleine Differenzen zwischen Gesamtfetten und der Summe der acetonlöslichen und -unlöslichen Lipide, die wohl auf Verluste während der Aufarbeitung zurückzuführen sind. Dann werden 5 cm^3 der Neutralfette und der Phosphorlipide in Wägeschälchen mit bekanntem Gewicht im Trockenschrank bei 105° eingedampft und das Gewicht der Trockensubstanz ermittelt. Aus diesem Wert und den gemessenen Impulsen wird die sogenannte "relative spezifische Aktivität", i.e. die Impulse pro mg Trockensubstanz acetonlöslicher bzw.-unlöslicher Fette errechnet. Das Verhältnis dieser spezifischen Aktivität von Neutralfetten zu Phosphorlipoiden wird ebenfalls errechnet.

Ergebnisse

Bei der Auswertung der Versuche ergab sich , daß sich einige der normal ernährten Tauben nicht wie die übrigen verhielten, sondern mit ihren Werten, die in sich übereinstimmen , eine Mittelstellung zwischen den Ergebnissen der Normaltauben und der Hungertauben einnehmen . Aus Gründen, auf die in der Diskussion näher eingegangen werden soll , werden sie in Tabellen und Kurven als "Mangeltauben" angeführt.

Die Tabelle I gibt einen Überblick über die Lebergewichte und den Ernährungszustand der Tauben sowie über die Versuchsdauer . In den folgenden Tabellen und Kurven sind die errechneten Aktivitäten der $C^{14}O_2$ - Ausscheidung und ihre graphische Darstellung gebracht, getrennt nach Normal-Hunger- und Mangeltauben . Eine weitere Unterteilung mußte darum getroffen werden , weil die Maxima der $C^{14}O_2$ - Ausscheidung entweder schon bei 60, oder erst bei 90 Minuten erreicht wurden. In den Tabellen II - IV sind also die Werte (Imp/min) der einzelnen Zeitabschnitte (15', 30' usw.) angeführt . Aus diesen Ergebnissen werden die Mittelwerte der Zeitintervalle errechnet und in Kurve I und II aufgetragen. (Die in Klammern stehenden Versuche werden zu der Berechnung nicht herangezogen , weil die Versuchsdauer zu kurz war). Diese Durchschnittswerte werden ebenfalls benutzt , um die Summe der Ausscheidung für die gesamte Versuchsdauer zu ermitteln (Kurve III und IV).

In den Tabellen V und VI sind die Ergebnisse der Leberaufarbeitung in Gesamtfette, acetonlösliche und -unlös-

liche Lipide aufgezeichnet. Wie aus Tabelle I ersichtlich, wurden nicht immer 5 g Leber verarbeitet. Um für Vergleichszwecke einheitliche Verhältnisse zu schaffen, werden sämtliche abweichenden Werte auf 5 g Lebergewicht umgerechnet. Über die spezifische Aktivität siehe Methodik und Diskussion.

Tabelle I

Versuchs- nummer	Versuchs- dauer(min)	Leber- gewicht(g)	Aufgearbei- tete Leber	Ernährungs- zustand
1	60	5,6	5,0	normal
2	120	7,3	5,0	normal
3	150	6,3	5,0	hunger
4	150	7,5	5,0	hunger
5	150	8,5	5,0	(normal)
6	60	7,4	5,0	hunger
7	60	4,7	4,5	normal
8	90	7,1	4,5	normal
9	60	7,8	5,0	hunger
10	90	6,0	5,0	hunger
11	150	4,3	3,9	hunger
12	150	10,7	5,0	(normal)
13	150	6,5	5,0	(normal)
14	150	6,5	5,0	normal
15	150	3,3	3,3	hunger
16	150	6,5	5,0	normal
17	150	3,4	3,4	hunger
18	150	7,3	5,0	(normal)
19	150	6,3	5,0	(normal)
20	150	8,9	5,0	normal

Die Mangeltauben sind in Klammern angeführt.

Tabelle II (Normaltauben)

Ausgeschiedenes Gesamt-C¹⁴O₂ nach verschiedenen Zeiten, angegeben in Impulsen . 10⁴/min.

Vers. Nr.	15'	30'	60'	90'	120'	150'	
Maximum bei 60'							
16	0,30	1,12	3,50	2,26	2,05	1,66	Einzelwert
		1,42	4,92	7,18	9,23	10,89	Summenwert
Maximum bei 90'							
1	(0,10)	(0,25)	(0,77)				
2	0,68	3,35	3,38	5,03	2,48		
7		(6,10)	(3,18)				
8		5,72	5,41	6,10			
14	(0,52)	(2,03)	(5,29)	(10,62)	(4,80)		
20	<u>2,71</u>	<u>4,39</u>	<u>6,13</u>	<u>6,64</u>	<u>4,88</u>	<u>3,67</u>	
	1,70	4,49	4,97	5,92	3,68	3,67	Einzelwert
		6,19	11,16	17,08	20,76	24,43	Summenwert

Tabelle III (Hungertauben)

Ausgeschiedenes Gesamt- $C^{14}O_2$ nach verschiedenen Zeiten, angegeben in Impulsen $\cdot 10^4/\text{min.}$

Vers. Nr.	15'	30'	60'	90'	120'	150'	
Maximum bei 60'							
6	(0,59)	(2,50)	(10,06)				
9		(3,70)	(9,98)				
11	4,30	7,88	9,76	5,27	3,83	2,00	
17	<u>1,96</u>	<u>2,96</u>	<u>6,64</u>	<u>5,89</u>	<u>2,54</u>	<u>1,48</u>	
	3,13	5,42	8,20	5,58	3,18	1,74	Einzelwert
		8,55	16,75	22,33	25,51	27,25	Summenwert
Maximum bei 90'							
3	1,85	2,23	5,31	10,32	5,22	4,92	
4	1,05	3,47	4,78	4,99	4,62	2,42	
10		6,85	4,71	8,28			
15	<u>1,31</u>	<u>2,10</u>	<u>6,77</u>	<u>7,11</u>	<u>5,91</u>	<u>4,14</u>	
	1,40	3,66	5,39	7,68	5,25	3,83	Einzelwert
		5,06	10,45	18,13	23,38	27,21	Summenwert

Tabelle IV (Mangeltauben)

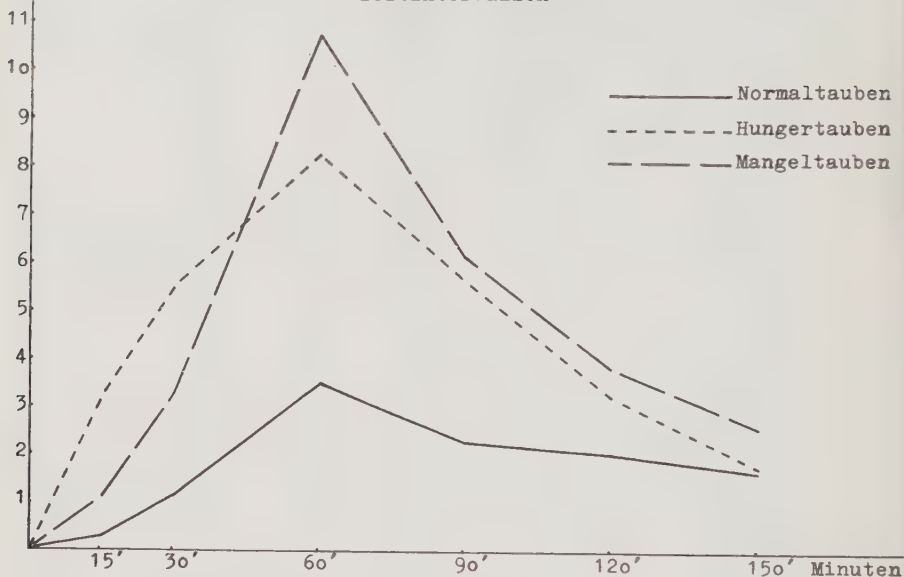
Ausgeschiedenes Gesamt- $C^{14}O_2$ nach verschiedenen Zeiten, angegeben in Impulsen $\cdot 10^4/\text{min.}$

Vers. Nr.	15'	30'	60'	90'	120'	150'	
Maximum bei 60'							
13	0,35	1,81	9,52	5,69	3,91	2,87	
18		5,62	12,62	8,01	3,63	2,31	
19	<u>1,80</u>	<u>2,27</u>	<u>9,74</u>	<u>4,64</u>	<u>3,85</u>	<u>2,41</u>	
	1,08	3,23	10,63	6,11	3,80	2,53	Einzelwert
		4,31	14,94	21,05	24,85	27,38	Summenwert
Maximum bei 90'							
5	0,88	2,02	4,76	8,26	2,83	2,23	
12	<u>1,03</u>	<u>2,13</u>	<u>3,34</u>	<u>8,74</u>	<u>4,72</u>	<u>1,24</u>	
	0,95	2,07	4,05	8,50	3,78	1,74	Einzelwert
		3,02	7,07	15,57	19,35	21,09	Summenwert

Kurve I

Maximum bei 60 Minuten

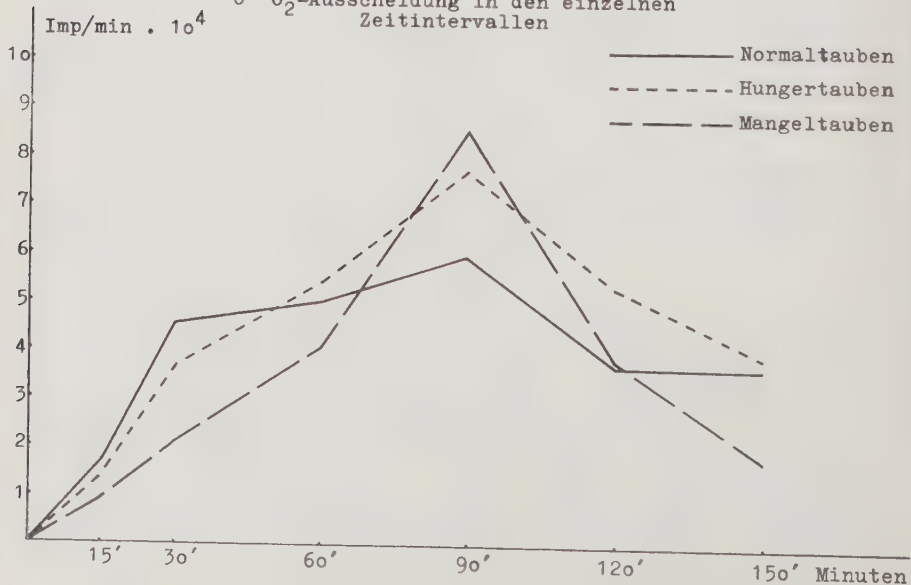
$C^{14}O_2$ -Ausscheidung in den einzelnen
Zeitintervallen

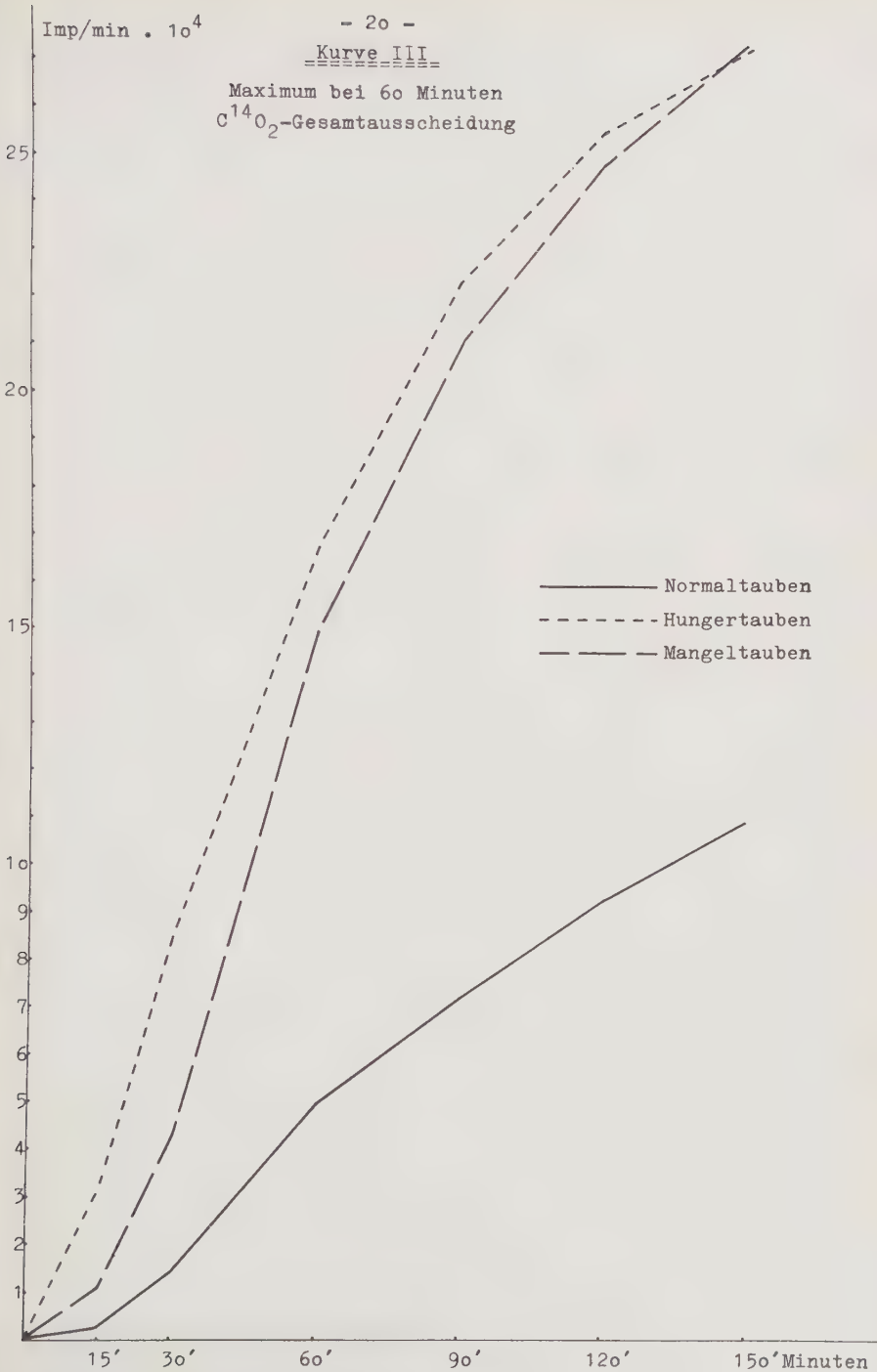


Kurve II

Maximum bei 90 Minuten

$C^{14}O_2$ -Ausscheidung in den einzelnen
Zeitintervallen





Kurve IV

Maximum bei 90 Minuten
 $C^{14}O_2$ -Gesamtausscheidung

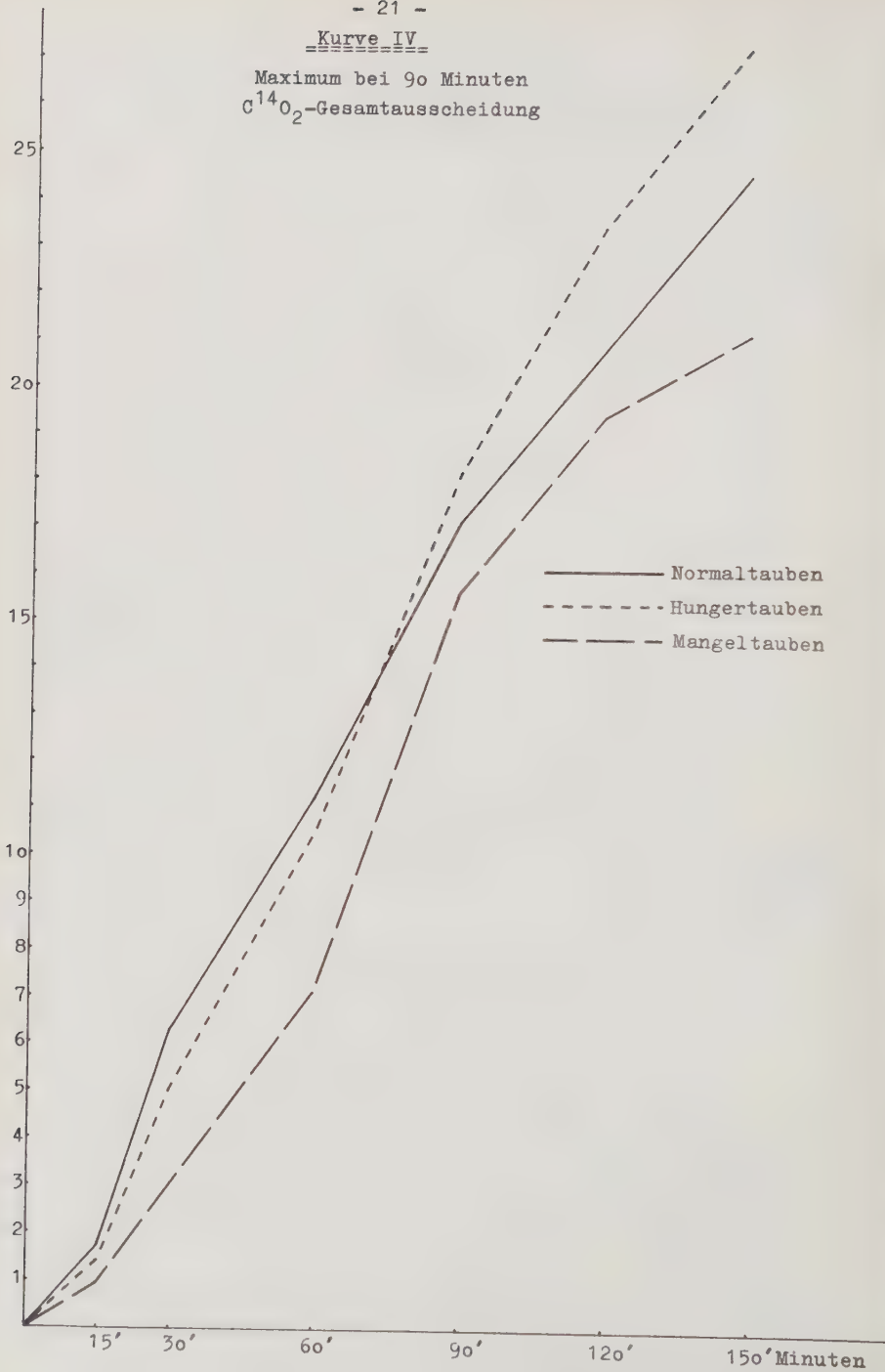


Tabelle V

Radioaktivität der extrahierten Gesamtfette, der Neutralfette (N) und der Phosphorlipide (P), angegeben in Impulsen $\cdot 10^4/\text{min}$.

Vers. Nr.	Gesamtfett	N	P	wiederge- wonnen %	N : P Quot.d.Akt.
-----------	------------	---	---	-----------------------	----------------------

Normaltauben

1	15,47	9,50	3,36	83	1 : 0,354
2	10,26	5,41	3,52	87	1 : 0,652
7	23,65	10,98	8,09	81	1 : 0,740
8	5,41	2,71	2,43	95	1 : 0,900
14	5,72	2,66	1,89	80	1 : 0,710
16	4,79	2,72	2,52	109	1 : 0,927
20	25,35	15,08	14,97	118	<u>1 : 0,991</u>
Mittelwert:					1 : 0,753

Hungertauben

3	2,22	0,60	1,69	103	1 : 2,81
4	3,40	0,50	1,56	60	1 : 3,14
6	3,38	0,76	1,91	79	1 : 2,52
9	2,06	0,61	1,42	99	1 : 2,32
10	3,46	0,68	2,53	93	1 : 3,75
11	1,95	0,40	1,42	94	1 : 3,57
15	4,50	1,10	2,65	83	1 : 2,39
17	1,99	0,59	1,61	111	<u>1 : 2,82</u>
Mittelwert:					1 : 2,92

Mangeltauben

5	3,92	1,28	2,45	94	1 : 2,02
12	8,59	1,96	3,74	60	1 : 1,81
13	3,89	1,34	1,91	84	1 : 1,42
18	5,32	1,57	2,12	69	1 : 1,36
19	6,08	1,77	2,78	75	<u>1 : 1,51</u>
Mittelwert:					1 : 1,624

Tabelle VI

Gesamtgewicht an acetonlöslichen (N) und acetonunlöslichen (P) Fetten in mg für 5 g Leber.

Spezifische Aktivität von N und P angegeben in Imp/min je mg Trockensubstanz, sowie der Quotient aus diesen Werten.

Vers. Nr.	N	P	N : P	relative spez. Aktivität		Quotient N : P spez. Akt.
	mg	mg	mg	N	P	

Normaltauben

7	119,3	131,6	1 : 1,102	923	617	1 : 0,665
8	69,5	141,8	1 : 2,040	390	172	1 : 0,440
16	95,3	203,5	1 : 2,135	285	124	1 : 0,435
20	119,0	200,6	1 : 1,685	1267	748	<u>1 : 0,590</u>

Mittelwert: 1 : 0,533

Hungertiere

6	54,5	216,5	1 : 3,980	139	88	(1 : 0,633)
9	143,8	276,0	1 : 1,920	43	52	1 : 1,204
10	92,8	191,2	1 : 2,060	73	132	1 : 1,820
11	105,2	249,0	1 : 2,365	38	57	1 : 1,510
15	99,0	165,5	1 : 1,671	111	150	1 : 1,440
17	127,8	154,5	1 : 1,210	46	104	<u>1 : 2,270</u>

Mittelwert: 1 : 1,649

Mangeltauben

5	91,3	240,5	1 : 2,240	133	102	1 : 0,764
12	103,2	150,0	1 : 1,453	190	249	1 : 1,313
19	102,5	105,0	1 : 1,025	172	264	<u>1 : 1,534</u>

Mittelwert: 1 : 1,204

Diskussion

Es wurden zu den Versuchen normal ernährte Tauben und Hungertiere verwendet. Nach Fütterung mit 1-C^{14} -markiertem Na-Acetat wurden die ausgeatmeten Mengen an C^{14}O_2 in regelmäßigen Intervallen bestimmt und dann nach Tötung des Tieres in der Leber die Gesamtfette, acetonlösliche und acetonunlösliche Fraktion analysiert. Da, wie schon weiter oben erwähnt, die acetonlöslichen Fette zur Hauptsache Neutralfette, die unlöslichen Phosphorlipide sind, soll im weiteren nur noch von Neutralfetten (N) und Phosphorlipiden (P) gesprochen werden.

Die Ergebnisse zeigten charakteristische Unterschiede zwischen den normal ernährten Tieren und den Hungertauben. Es ergab sich außerdem, daß ein Teil der Versuche von Tieren, von denen angenommen werden durfte, sie seien gut genährt, mit ihren Ergebnissen zwischen Normal- und Hungertieren lagen. Der Grund für das Versagen dieser "Mangeltauben" kann in der Verhaltensweise der Tauben gesucht werden. Diese sind untereinander sehr futterneidisch und streitsüchtig, sodaß es bei dem gedrängten Aufenthalt im Käfig leicht vorkommen kann, daß ein schwächeres Tier sich an der Futterstelle nur schwer gegen die stärkeren Artgenossen durchsetzt und daher schlecht ernährt ist (16). Aus räumlichen Gründen war es aber nicht möglich, die Tauben in Einzelkäfigen zu halten. Darüber hinaus gibt es auch jahreszeitlich bedingte Unterschiede in der Stärke der Fettsynthese, die schon aus den Arbeiten von v.Brand und Seitz bekannt sind.

Bei den Ergebnissen der $C^{14}O_2$ -Ausscheidung ergaben die Normaltauben eine charakteristische Kurve, die sich deutlich von den untereinander übereinstimmenden Kurven der Mangel- und Hungertauben unterschied. Die Kurven gliedern sich in solche, die bei 60 Minuten, und in andere, die bei 90 Minuten ihr Maximum erreicht haben. Der Kurventyp wird dadurch nicht beeinflusst. Obwohl diese beiden Maxima bei allen drei Taubentypen vorkommen, ist doch das Verhältnis ihrer Häufigkeit verschieden: während bei den Normaltauben von 7 Versuchen nur einer sein Maximum bei 60 Minuten hat, also 6 : 1, beträgt das Verhältnis bei den Mangeltauben 2 : 3 und bei den Hungertauben 4 : 4. Daraus läßt sich der Schluß ziehen, daß bei Normaltauben die Verbrennungsvorgänge nicht so intensiv ablaufen wie bei den beiden anderen Taubentypen. Dieser Schluß wird durch die Auswertung der Kurven bestätigt. Aus Kurve I und II, in denen die Ausscheidungen in den einzelnen Versuchsabschnitten aufgezeichnet wurden, ist deutlich zu sehen, daß die Verbrennungsvorgänge der Normaltauben zwar im Vergleich zu ihrem Maximum schnell beginnen, dann aber flach zum Maximum steigen, nur allmählich abfallen, um auf einem annähernd gleichbleibendem Niveau weiterzuverlaufen. Im Gegensatz dazu beginnen die Verbrennungsvorgänge bei den Mangeltauben und den Hungertauben verzögert, steigen aber dann sehr steil zum Maximum, um ebenso steil wieder abzufallen. Diese Tatsache ist auch aus Kurve III und IV zu ersehen, in denen die Gesamtausscheidung aufgezeichnet ist. Während die Kurve der Normaltauben annähernd linear verläuft, sind die

Kurven der Mangel- und Hungertiere S - förmig ausgebildet , entsprechend einer Verzögerung im Beginn und einem Abfall am Ende . Diese Verzögerung mag durch einen Mangel an ATP zufolge der langen Hungerzeit bedingt sein, der erst durch die anlaufenden Verbrennungsvorgänge behoben werden muß, um dann den raschen Verlauf der Verbrennung zu ermöglichen. Abschließend kann man sagen , daß allein aus dem Kurventyp bereits auf den Ernährungszustand der Taube geschlossen werden kann.

Bei der Aufarbeitung der Leber in Gesamtfette, aceton-lösliche und - unlösliche Lipide zeigte sich nun nicht wie bei den Kurven der $C^{14}O_2$ - Ausscheidung eine völlige Übereinstimmung der Mangel- mit den Hungertauben, sondern hier lagen die Ergebnisse der Mangeltiere zwischen denen der Hunger- und Normaltiere. Es zeigte sich als erstes, daß die Normaltiere wesentlich mehr Aktivität in ihre Fette einbauten. Dies erhärtet die Ergebnisse der $C^{14}O_2$ -Ausscheidung insofern, als bei den Normaltauben nicht die Verbrennungsvorgänge im Vordergrund stehen, sondern die Synthese . Des weiteren war das Verhältnis der Aktivität zwischen Neutralfetten (N) und Phosphorlipoiden (P) bei den drei Taubentypen charakteristisch verschieden:

Normaltauben: N : P = 1 : 0,753

Mangeltauben: N : P = 1 : 1,624

Hungertauben: N : P = 1 : 2,915

Bei den Normaltauben hatten die Neutralfette die höhere Aktivität , bei den Hungertauben die Phosphorlipide , die Mangeltiere lagen dazwischen, aber auch bei ihnen wird das

Verhältnis 1 : 1 bereits überschritten . Diese Verhältnis-
zahlen geben an , wie das angebotene $1-C^{14}$ - Na - Acetat auf
Neutralfette und Phosphorlipoide aktivitätsmäßig verteilt
wurde.

Als nächstes wurden die Gewichtsverhältnisse zwischen
Neutralfetten und Phosphorlipoiden bestimmt:

Normaltauben: N : P = 1 : 1,7405

Mangeltauben: N : P = 1 : 1,573

Hungertauben: N : P = 1 : 2,201

Obwohl diese Verhältnisse einen Unterschied zu zeigen
scheinen, trifft dies nicht zu, weil die Einzelwerte , wie
aus Tabelle VI zu ersehen ist, eine allzugroße Schwankungs-
breite aufweisen und sich gegenseitig überschneiden . Es
kann also daraus nur ersehen werden , daß in allen Fällen
mehr Phosphorlipoide als Neutralfette in der Leber vorhan-
den waren.

Um Zusammenhänge besser erkennen zu lassen , wurde die
spezifische Aktivität bestimmt, i.e. die Imp/min für je 1 mg
Neutralfette und Phosphorlipoide errechnet und der Quo-
tient gebildet. Hierdurch zeigten sich jetzt ganz deutliche
Unterschiede:

Normaltauben: N : P = 1 : 0,5325

Mangeltauben: N : P = 1 : 1,204

Hungertauben: N : P = 1 : 1,649

Dieses Verhältnis läßt den Schluß zu , daß bei den Normal-
tauben mehr Neutralfette gebildet werden , während bei den
Hungertauben mehr Phosphorlipoide synthetisiert werden. Die
Mangeltauben verhalten sich wieder annähernd wie die Hun-
gertiere.

Eine Erklärung für die unterschiedliche Synthese von Neutralfetten und Phosphorlipoiden bei den drei Taubentypen könnte sein, daß die Phosphorlipoide die Transportform der Fette sind. Das würde also heißen, daß im Falle eines energiebedürftigen Tieres in der Leber zum Hauptteil Phosphorlipoide gebildet werden, um sie in die Peripherie zur Verbrennung zu schicken. Zum anderen fanden schon Pihl und Bloch (6), daß in der Leber normal ernährter Tiere die Neutralfette schneller regeneriert werden als die Phosphorlipoide, was auch durch die vorliegenden Untersuchungen bestätigt wurde. Pihl und Bloch schlossen daraus, daß die Phosphorlipoide nicht, wie früher angenommen, "obligatorische Zwischenprodukte bei der Synthese von Triglyceriden" sind. Dies spricht also auch dafür, daß Phosphorlipoide nur bei Energiebedarf bevorzugt gebildet werden.

Alle im Vorangehenden angegebenen Verhältniszahlen wurden durch die Versuchsdauer nicht beeinflusst, i.e. es war gleichgültig, ob die Taube nach 60, 90, 120 oder 150 Minuten getötet wurde. Von den in diesen Versuchen gebildeten aktiven Fetten sind wahrscheinlich nicht alle Neusynthesen, sondern ein Teil mag auch durch Austausch von inaktiven C_2 -Bruchstücken mit aktiven entstanden sein.

Zusammenfassung

- 1.) Um Beziehungen des Fettstoffwechsels zum Ernährungszustand aufzuzeigen, wurden mit kohlenhydratreicher Kost normal ernährte Tauben und andere, die drei Tage gehungert hatten, mit 1 cm^3 $1\text{-C}^{14}\text{-Na-Acetat}$ gefüttert, der Einbau des $\text{C}^{14}\text{-Acetates}$ in die Fette verfolgt, und der Abbau der markierten Verbindungen durch Bestimmung des ausgeatmeten C^{14}O_2 quantitativ gemessen.
- 2.) Es zeigte sich beim Auffangen des ausgeatmeten C^{14}O_2 , daß die Hungertauben nach verzögertem Beginn einen steilen Anstieg zu einem sehr hohen Maximum der Verbrennungsvorgänge aufwiesen, mit einem ebensosteiligen Abfall, während die Normaltauben nach Erreichen eines niedriger gelegenen Maximums und einem nur geringen Abfall die Verbrennungsvorgänge auf konstanter Höhe zu halten vermochten. Ein Teil der Normaltauben, als Mangeltauben bezeichnet, verhielt sich wie die Hungertauben.
- 3.) Im zweiten Teil der Versuche zeigte sich, daß die Normaltauben mehr Aktivität in die Leberfette einbauten als die Hungertauben. Das Verhältnis von acetonlöslichen zu acetonunlöslichen Fetten lag bei den Hungertauben stark auf der Seite der unlöslichen (Phosphorlipide); bei den Normaltauben war dieses Verhältnis umgekehrt. Die Mangeltauben verhielten sich wieder wie die Hungertiere.
- 4.) Aus diesen Ergebnissen ist zu ersehen, daß die Fettsynthese bei Hungertauben sicher verringert ist, daß aber andererseits ein vermehrter Abbau der synthetisierten C^{14} -markierten Verbindungen, also auch der Fette, statt-

findet. Des weiteren scheinen Phosphorlipoide als Hauptvertreter der acetonunlöslichen Fette bei Energiebedarf, wie er im Hungerzustand vorliegt, bevorzugt neu gebildet zu werden.

Literaturverzeichnis

- 1.) Schoenheimer, R. and Rittenberg, D.
Deuterium as an indicator in the study of intermediary metabolism.
J. Biol. Chem. Vol. 114:381, 1936
- 2.) Stetten, D.W. jr. and Boxer, G. E.
The rate of turnover of liver and carcass glycogen, studied with the aid of Deuterium.
J. Biol. Chem. Vol. 155:231, 1944
- 3.) Masoro, E.J., Chaikoff, I.L. and Dauben, W.G.
Lipogenesis from glucose in the normal and liverless animal as studied with C¹⁴-labeled glucose.
J. Biol. Chem. Vol. 179:1117, 1949
- 4.) Rittenberg, D. and Schoenheimer, R.
Further studies on the biological uptake of Deuterium into organic substances, with special reference to fat and cholesterol formation.
J. Biol. Chem. Vol. 121:235, 1937
- 5.) Rittenberg, D. and Bloch, K.
J. Biol. Chem. Vol. 160:417, 1945
- 6.) Pihl, A. and Bloch, K.
The relative rates of metabolism of neutral fat and phospholipides in various tissues of the rat.
J. Biol. Chem. Vol. 183:431, 1950
- 7.) Bloch, K. and Rittenberg, D.
J. Biol. Chem. Vol. 159:45, 1945
- 8.) Stein, Y. and Shapiro, B.
The synthesis of neutral glycerides by fractions of rat liver homogenates.
- 9.) von Brand, V. und Helmreich, E.
Beziehungen der Glykolyse zum Fettstoffwechsel.
Biochemische Zeitschrift, Bd. 328:146, 1956
- 10.) Van Baalen, J. and Gurin, S.
Cofactor requirements for lipogenesis.
J. Biol. Chem. Vol. 205:303, 1953

- 11.) von Brand, V. und Seitz, W.

Über einen die Fettsäuresynthese steigernden Faktor der Leber.

Klinische Wochenschrift, 36. Jahrgang, 2. Heft, Januar 1958, Seite 87/88

- 12.) Lynen, F. and Ochoa, S.

Enzyms of fatty acid metabolism.

Biochemica et Biophysica acta, Vol. 12:299, 1953

- 13.) Masoro, E.J., Chaikoff, I.L., Chernick, S.S. and Felts, J.M.

Bravious nutritional state and glucose conversion to fatty acids in liver slices.

J. Biol. Chem. Vol. 185:845, 1950

- 14.) Calvin, M., Heidelberger, C., Tolbert, B.M. and Yankwich, P.E.

Isotopic Carbon. New-York: Y. Wiley, S., 1949

- 15.) Entenman, C., Lerner, S.R., Chaikoff, I.L. and Dauben, W.G.

Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. Vol. 70:364, 1949

- 16.) Alfred Brehm

Brehms Tierleben; Die Vögel, Bd. 2:381 ff., 1911

Vorliegende Arbeit konnte im Isotopenlabor der Medizinischen Universitäts-Poliklinik ausgeführt werden; dafür danke ich Herrn Professor Dr. W. Seitz herzlichst.

Die besondere Problemstellung verdanke ich Freifrau Dr. Dr. von Brand, die mir die theoretischen Grundlagen dieser speziellen biochemischen Fragen vermittelte und die Wege zu ihrer experimentellen Bearbeitung wies. Hierfür darf ich an dieser Stelle Freifrau Dr. Dr. von Brand meinen Dank zum Ausdruck bringen.

Neben meiner Arbeit konnte ich mich noch an Versuchen zur Aufklärung eines die Fettsäuresynthese steigernden Faktors, gewonnen aus Taubenleberhomogenaten, beteiligen.

Lebenslauf

Am 1. September 1934 wurde ich , Heinz Fritz Kolitz , als Sohn des Exportkaufmannes Fritz Karl Kolitz und seiner Ehefrau Dora in Kaiserslautern / Rheinpfalz geboren . 1936 siedelten meine Eltern nach München über. Hier besuchte ich von 1940 bis 1945 die Volksschule. 1946 trat ich in das humanistische Maximiliansgymnasium (München) ein, an dem ich am 17. Juli 1953 das Reifezeugnis erhielt. Vom Wintersemester 1953/4 bis einschließlich Sommersemester 1959 war ich an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München immatrikuliert. In der Zeit vom 12. 9. bis 19. 12. 1959 unterzog ich mich dem Medizinischen Staatsexamen.

